

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



537091

(43) 国際公開日
2004年6月17日 (17.06.2004)

PCT

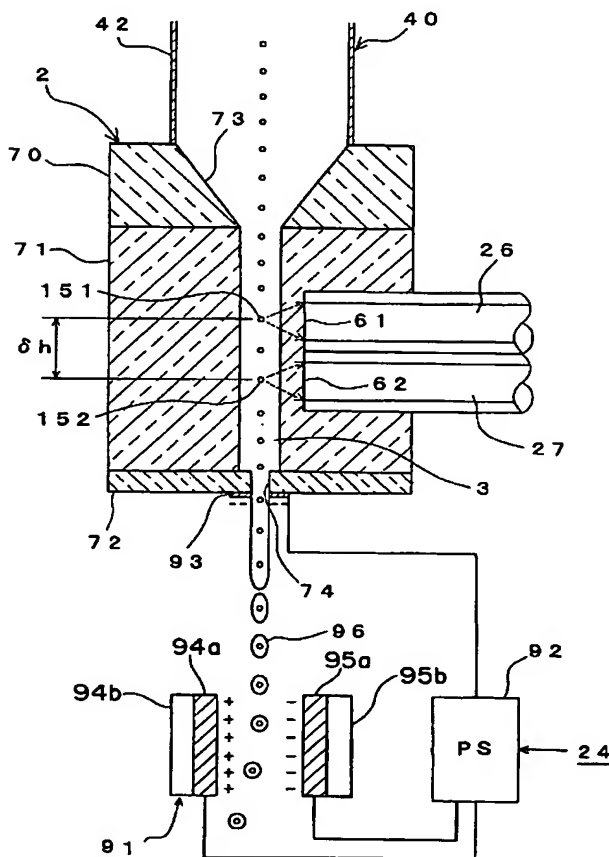
(10) 国際公開番号
WO 2004/051238 A1

- (51) 国際特許分類⁷: G01N 15/14
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/015461
- (22) 国際出願日: 2003年12月3日 (03.12.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2002-351162 2002年12月3日 (03.12.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): ベイバイオサイエンス株式会社 (BAY BIOSCIENCE KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町5丁目5-2 Hyogo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 神田 昌彦 (KANDA, Masahiko) [JP/JP]; 〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町5丁目5-2 ベイバイオサイエンス株式会社内 Hyogo (JP).
- (74) 代理人: 河宮 治, 外 (KAWAMIYA, Osamu et al.); 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号IMPビル 青山特許事務所 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (国内): US.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

[続葉有]

(54) Title: DEVICE FOR COLLECTING INFORMATION ON BIOLOGICAL PARTICLE

(54) 発明の名称: 生物学的粒子の情報を得る装置



(57) Abstract: A device (1) for collecting biological information on a dyed biological particle (cell, chromosome) contained in a liquid by applying light to the liquid and detecting information light from the biological particle. The device comprises a channel forming member (2) for forming a channel (3) through which a liquid containing a dyed biological sample, an illuminating section (5) for applying light to a particle flowing through the channel, a first detecting section (21) for detecting forward-scattering light of the light applied to the particle, and a second detecting section (25) for detecting side-scattering light of the light applied to the particle. The first and/or second detecting sections (21, 25) have optical fibers (26, 27), and the end faces (61, 62) of the optical fibers (26, 27) are disposed near the channel (2) so as to collect information light. The optical axes can be easily aligned, and biological information on a biological particle can be easily collected.

(57) 要約: 装置 (1) は、染色処理された生物学的粒子 (細胞、染色体) を含む液体に光を当て、該生物学的粒子からの情報光を検出して、該生物学的粒子の生物学的情報を得るものである。この装置は、染色処理された生物学的試料を含む液体が流れる流路 (3) を形成する流路形成部材 (2) と、流路を流れる粒子に光を当てる照明部 (5) と、粒子に当てられた光の前方散乱光を検出する第1の検出部 (21) と、粒子に当てられた光の側方散乱光を検出する第2の検出部 (25) とを備えており、第1の検出部 (21) 及び/又は第2の検出部 (25) は、一つまたは複数の光ファイバ (26, 27) を備えており、光ファイバ (26, 27) の一端面 (61, 62) が情報光を集光で

きるように流路 (2) の近傍に配置されている。この装置 (1) によれば、容易に光軸調整が行える、生物学的粒子の生物学的情報を得ることができる。



添付公開書類:

一 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

生物学的粒子の情報を得る装置

5 技術分野

本発明は、生物学的粒子（例えば、細胞、染色体）の生物学的情報を得る装置に関する。特に、本発明は、蛍光色素などの色素材料を用いて染色された細胞や染色体を層流状態で流し、その流れにレーザ光などの光を照射して得られる情報光（散乱光、蛍光）を検出し、検出された情報光に含まれる光学的情報を電気信号に変換して細胞や染色体の生物学的情報を取得し、さらに必要であればその生物学的情報をもとに特定の細胞や染色体の集団を採取するフローサイトメータまたはセルソータに関する。

背景技術

バイオテクノロジーの発展に伴い、医学や生物学などの分野では、細胞や染色体など（以下「細胞」という。）の自動分析および分別を行う流動式細胞分析装置（フローサイトメータ）が用いられている。この流動式細胞分析装置は、分析対象である細胞粒子を、細胞整列手段である流路内で一列にして流し、この流れてくる粒子にレーザ光を照射し、粒子より生じる情報光（前方散乱光、蛍光・側方散乱光）を検出して電気信号に変換し、これらの電気信号に基づいて細胞を分析するものであり、多数の細胞を高速で分析し、必要であれば特定の細胞の集団を採取できるものである。

図12は一般的なフローサイトメータの構成と、その作動を説明するための模式図である。この図に示すフローサイトメータ200では、容器中にあって細胞を含む懸濁液201は、別の容器中にあるシース液202とともに、エアープンプ203によって漏斗状のフローチャンバ（ノズル）204に導かれる。フローチャンバ204の内部では、シース液202が懸濁液201を円筒状に包み込む層流、すなわち細胞をフローセルの中心軸に沿って一つ一つ正確に流すシースフローが形成される。フローチャンバ204の下部ではシースフローの高速流が形

成され、そこにレーザ光源 205 から出射されて集束レンズ 206 によって絞り込まれたレーザ光 207 が照射される。懸濁液 201 に含まれる細胞は、多くの場合、蛍光染料や蛍光ラブルモノクローナル抗体などの蛍光物質で蛍光標識されている。したがって、細胞がレーザ光 207 中を経過するとき、散乱光と蛍光が発生する。

散乱光は、集光レンズ 208 とビームブロック 209 からなる集光光学系を経て、例えばフォトダイオードなどの検出器 210 で検出される。一方、蛍光については、赤色蛍光が集光レンズ 211、ハーフミラー 212、集光レンズ 213、フィルタ 214 からなる集光光学系で集められ、光検出器 215 で検出され、また緑色蛍光はハーフミラー 212 から集光レンズ 216、フィルタ 217 で集められ、光検出器 218 で検出される。通常、蛍光の検出器 215、218 には、微弱光の検出が可能な光電子増倍管が用いられる。散乱光を検出する検出器 210、赤色蛍光を検出する光検出器 215 および緑色蛍光を検出する光検出器 218 からの信号は、それぞれ信号処理回路 219 に送られ、ここで散乱光と蛍光の強度を分析することにより細胞の同定が行われる。

このように、従来の細胞分析装置は、集光レンズ 211、ハーフミラー 212、集光レンズ 213、フィルタ 214 からなる集光光学系で集めた散乱光や蛍光を光検出器 215、218 で検出するように構成されている。また、集光レンズ 211 は、高速水流の中心を 1 個ずつ流れる細胞から発する蛍光を対物レンズで集光している（例えば、特開昭 59-643 号公報、特開昭 59-184862 号公報、特開昭 60-195436 号公報、特表平 3-503808 号公報を参照）。しかし、フローチャンバ 204 のオリフィス部分で粒子の詰まりが発生したり、流れが乱れたり、また流れが傾いたりすることがある。この場合、フローチャンバ 204 を取り外して洗浄しなければならないわけであるが、その度に光軸調整（レーザの照射位置・焦点距離、ノズルの位置・角度、対物レンズの位置・焦点距離等の調整）を要し、しかもそれらの調整作業は相当煩雑であった。また、このようなレンズの構成は高開口率のレンズを使用しているため、光学系を小型化するのが非常に難しかった。

このような問題を解決するため、光学検出をフローセル内の一定流路の中で行

う試みが提案されており、そこでは蛍光を集光するためにフローセルに高開口率のレンズが融着されている。しかし、この小径レンズでは集光した蛍光をコリメートできない。また、多くの場合はさらに集光用のレンズを数枚結合させる必要があり、その場合、レンズ間に空気層を挟むために感度の向上が実現できない。

5 そのため、光学系を小型化することは不可能である。

発明の開示

そこで、本発明は、容易に光軸調整ができるフローサイトメータを提供することを目的とする。また、本発明は、生物学的粒子の生物学的性質をより正確に検

10 出できるフローサイトメータを提供することを目的とする。

これらの目的を達成するために、本発明に係る生物学的粒子の生物学的情報を得る装置（１）は、染色処理された生物学的粒子を含む液体に光を当て、該生物学的粒子からの情報光を検出して、該生物学的粒子の生物学的情報を得るものであり、染色処理された生物学的試料を含む液体が流れる流路（３）を形成する流路形成部材（２）と、上記流路（３）を流れる粒子に光を当てる照明部（５）と、上記粒子に当てられた光から得られる第１の情報光を検出する第１の検出部（２１）と、上記粒子に当てられた光から得られる第２の情報光を検出する第２の検出部（２５）を備えており、上記第１の検出部（２１）、第２の検出部（２５）の少なくともいずれか一方は、一つまたは複数の光ファイバ（２６，２７）を備えており、上記光ファイバ（２６，２７）の一端面（６１，６２）が上記情報光を集光できるように流路（２）の近傍に配置されている。

15 20

本発明に係る生物学的粒子の生物学的情報を得る装置の他の形態は、第１の検出部（２１）、第２の検出部（２５）の少なくともいずれか一方が第１の光ファイバ（２６）と第２の光ファイバ（２７）を備えており、上記第１の光ファイバ（２６）と第２の光ファイバ（２７）の一端面（６１，６２）が上記第１の位置（１５１）と第２の位置（１５２）で光が当てられた粒子からの情報光をそれぞれ集光できるように流路（３）の近傍に配置されていることを特徴とする。

25

図面の簡単な説明

図 1 : 本発明に係る生物学的粒子の生物学的性質を得る装置の光学的要素を示す図。

図 2 : 本発明に係る生物学的粒子の生物学的性質を得る装置の流体力学的構成を示す側面図。

図 3 : 図 2 に示す装置に付設された角度調整装置の断面図。

図 4 : 図 1 に示す装置の検出流路とその近傍に配置された光ファイバの一部を拡大した拡大横断面図。

図 5 : 図 1 に示す装置の検出流路とその近傍に配置された光ファイバの一部を拡大した拡大縦断面図。

図 6 : 図 1 に示す装置の流路形成部材（流路ブロック）の拡大斜視図。

図 7 A : 図 6 に示す流路形成部材に組み込まれるファイバホルダの拡大正面図。

図 7 B : 図 6 に示す流路形成部材に組み込まれるファイバホルダの拡大側面図。

図 8 A : ファイババンドルを用いたファイバホルダの拡大正面図。

図 8 B : 図 8 A に示すファイバホルダの拡大断面図。

図 9 : 本発明に係る装置の他の形態の側面図。

図 10 : 本発明に係る装置の他の形態の側面図で、シース液から異物を除去する流体回路を示す図。

図 11 : 信号処理装置の回路図。

図 12 : 生物学的粒子の生物学的性質を得る従来装置を示す斜視図。

発明を実施するための最良の形態

以下、図面を参照して本発明に係るフローサイトメータを説明する。

I. 光学的要素 :

図 1 は、フローサイトメータの光学的要素を示す。この図に示すように、フローサイトメータ 1 は、蛍光染料または蛍光抗体で染色された生物学的粒子（細胞または染色体）を含む液体（通常、細胞を含む懸濁液とシース液とからなる。）

が流れる細い流路を形成する流路ブロック（流路形成部材）2を有する。流路ブロック2に形成されている流路3の中を流れるシースフロー（流れ）4に光を照射する照明部5は、2つの励起光源を備えている。これら2つの光源には、異なる波長のレーザ光を発生するレーザ発生器が好適に利用される。例えば、本実施

5 形態では、第1の光源として波長488nmの第1のレーザ光（アルゴンレーザ）を発生する第1のレーザ発生器6が使用され、第2の光源には波長635nmの第2のレーザ光（ヘリウムネオンレーザ）を発生する第2のレーザ発生器7が使用されている。しかし、2つの光源に、水銀ランプやキセノンランプなどのランプを使用することができる。

10 照明部5はまた、第1のレーザ発生器6から出射された第1のレーザ光8をシースフロー4に集光するために、光ファイバ9、ビームエキスパンダ10、集光レンズ11を備えており、第1のレーザ発生器6で生成された第1のレーザ光8が光ファイバ9、ビームエキスパンダ10、集光レンズ11を通過してシースフロー4のほぼ中心に集光されるようにしてある。同様に、照明部5は、第2のレーザ発生器7から出射された第2のレーザ光12をシースフロー4に導くために、

15 光ファイバ13、ビームエキスパンダ14、集光レンズ15、ミラー16を備えており、第2のレーザ発生器7で生成された第2のレーザ光12が光ファイバ13、ビームエキスパンダ14、集光レンズ15、ミラー16を通過してシースフロー4のほぼ中心に集光されるようにしてある。また、シースフロー4における第1と第2のレーザ光8、12の集光高さは δh （図5参照）だけ異なり、本実施

20 形態では第1のレーザ光8の集光位置が第2のレーザ光12の集光位置よりも δh だけ高く設定されている。

ビームエキスパンダ10、14と集光レンズ11、15はそれぞれ集光位置調整装置16、17、18、19によって支持されており、シースフロー4の流れ

25 方向と直交する面（通常は水平面）上でそれらの光軸と直交する二方向（X方向とY方向）に移動できるようにしてある。ミラー16もまた別の集光位置調整装置20によって支持されており、上述の二方向または垂直方向（X、Y方向と直交するZ方向）に移動できるようにしてある。

流路ブロック2を挟むようにして入射レーザ光8、12の反対側には、流路ブ

ロック 2 内の流路を流れる粒子に照射された光の前方散乱光を検出する第 1 の検出装置 2 1 が配置されている。この第 1 の検出装置 2 1 は、図 1 2 を参照して説明した従来のフローサイトメータと同様に、集光レンズ 2 2、光検出器 2 3 を備えており、細胞からの前方散乱光を集光レンズ 2 2 で光検出器 2 3 に集光するようにしてある。また、光検出器 2 3 は信号処理装置 2 4 に接続されており、光検出器 2 3 で検出された情報が信号処理装置 2 4 に送信されて処理されるようにしてある。一方、細胞の蛍光・側方散乱光を検出する第 2 の検出装置 2 5 は、第 1 のレーザ光 8 に対する蛍光・側方散乱光を検出する第 1 の光ファイバ 2 6 と、第 2 のレーザ光 1 2 に対する蛍光・側方散乱光を検出する第 2 の光ファイバ 2 7 を備えており、これら第 1 と第 2 の光ファイバ 2 6、2 7 の一端が第 1 と第 2 のレーザ光 8、1 2 の集光高さに対応する位置にそれぞれ固定されている（図 5 参照）。第 1 と第 2 の光ファイバ 2 6、2 7 の他端は、ファイバコネクタ 2 8、2 9 を介して第 1 と第 2 の分光器 3 0、3 1 にそれぞれ光接続されている。各ファイバコネクタ 2 8、2 9 には、光ファイバの出力光をコリメートするセルフオックスレンズ 3 2、3 3 または他の光学レンズを内蔵するのが好ましい。

第 1 の分光器 3 0 は、第 1 の光ファイバ 2 6 から出力された光を分光する複数の分光フィルタ（ハーフミラー）3 4 a を備えている。これら複数の分光フィルタ 3 4 a は、予め決められたそれぞれの周波数領域の波長を反射・透過する性能を備えている。具体的に、本実施の形態では 4 つの分光フィルタを備えており、セルフオックスレンズ 3 2 側から、5 0 5 nm 未満の光を反射する（5 0 5 nm 以上の波長光を透過する）第 1 のフィルタ、5 5 0 nm 未満の光を反射する（5 5 0 nm 以上の波長光を透過する）第 2 のフィルタ、6 0 0 nm 未満の光を反射する（6 0 0 nm 以上の波長光を透過する）第 3 のフィルタ、及び 7 3 0 nm 未満の光を反射する（7 3 0 nm 以上の波長光を透過する）第 4 のフィルタが配置されている。また、光の進行方向に関して分光フィルタ 3 4 a の下流側には、各分光フィルタで反射された光の中から特定の波長域の光だけを選択的に透過して取得するバンドパスフィルタ 3 4 b が配置されている。本実施の形態では、第 1 から第 4 の分光フィルタで反射された光と第 4 の分光フィルタを透過した光の中から特定の波長域の光だけを透過する 5 つのバンドパスフィルタが設けてあり、

5つのバンドパスフィルタのそれぞれを透過する光の中心波長が488 nm、530 nm、570 nm、680 nm、波長幅が10 nm、40 nm、40 nm、30 nmとしてある。さらに、光の進行方向に関して複数のバンドパスフィルタ34bの下流側には各バンドパスフィルタを透過した情報光（側方散乱光と所定の蛍光色素に対応した蛍光）を検出するために複数の光検出器35（SSC, FL1, FL2, FL3, FL4）が用意されている。

一方、第2の分光器31は、第2の光ファイバ27から出力された光のうち730 nm未満の光を反射すると共に730 nm以上の光を透過する分光フィルタ36aと、この分光フィルタ36aで反射した光と透過した光の中から、中心波長が660 nmで波長幅が30 nmの光、中心波長が785 nmで波長幅が50 nmの光をそれぞれ選択的に透過するバンドパスフィルタ36bと、これらのバンドパスフィルタ37を透過した情報光（所定の蛍光色素に対応した蛍光）を検出するために2つの光検出器37（FL5, FL6）を備えている。これら光検出器35, 37は、第1の検出装置21の光検出器23と同様に、信号処理装置24に接続されており、光検出器35, 37で検出された情報が信号処理装置24に送信されて処理されるようにしてある。

このように構成されたフローサイトメータ1によれば、第1のレーザ発生器6で生成された第1のレーザ光8は、光ファイバ9、ビームエキスパンダ10、集光レンズ11を介して、流路ブロック2の流路3内を流れるシースフロー4によって導光されて粒子に集光される。同様に、第2のレーザ発生器7で生成された第2のレーザ光12は、光ファイバ13、ビームエキスパンダ14、集光レンズ15を介して、流路ブロック2の流路3内を流れるシースフロー4によって搬送される粒子に集光されて照射される。このとき、第1と第2のレーザ光8, 12が集光される焦点位置（高さ）は異なる。

シースフロー4によって搬送される生物学的粒子は、予め決められた複数の蛍光色素または蛍光抗体によって染色されている。そして、入射光の前方に散乱した前方散乱光が第1の検出装置21の集光レンズ22によって集光されて光検出器23に入射され、この光検出器23によって前方散乱光に含まれる光情報が読み取られて対応する電気信号に変換される。第1のレーザ光8が照射された粒子

から出た側方散乱光と蛍光は入射光の側方に配置された第2の検出装置25の第1の光ファイバ26によって受光される。また、第2のレーザ光12が照射された粒子から出た側方散乱光と蛍光は第2の検出装置25の第2の光ファイバ27によって受光される。そして、第1の光ファイバ26に受光された光はファイバコネクタ28を介して第1の分光器30に送られ、そこで複数の分光フィルタ34aによって複数の光に分解された後、バンドパスフィルタ34bを介して光検出器35によって検出される。このとき、各光検出器35（SSC, FL1, FL2, FL3, FL4）は、バンドパスフィルタ34bを通過した異なる波長域の光だけを検出する。同様に、第2の光ファイバ27に受光された光はファイバコネクタ29を介して第2の分光器31に送られ、そこで分光フィルタ36aによって2つの光に分解された後、分解された2つの光がバンドパスフィルタ36bを介して光検出器37で検出される。これら光検出器37で検出される光の波長域は異なる。以上のようにして光検出器に検出された光は、その光に含まれる情報に対応した電気信号に変換された後、信号処理装置24に送信されて処理され、処理後の信号が粒子の生物学的性質の同定や後に説明するソーティング処理に利用される。

II. 流体力学的要素：

フローサイトメータの流体力学的要素を説明する。まず、図2は、フローサイトメータ1の層流形成容器40と該容器40の下端部に連結された流路ブロック2を模式的に表した図である。この図に示すように、容器40は、概略、上部の大径筒部41と、下部の小径筒部42と、これらの大径筒部41と小径筒部42を連結するテーパ部43を同心的に備えており、内部に層流形成室44を形成している。容器40の上端部は、シース液供給部45にシース液供給管46を介して接続されている。容器40の天井部には容器40の中心軸に沿って伸びる鞘管47が固定されており、懸濁液供給部48に接続された懸濁液供給管49が鞘管47に挿入されている。鞘管47の内径と懸濁液供給管49の外径は、鞘管47に対して懸濁液供給管49が上下に移動できるとともに鞘管47に対して懸濁液供給管49が若干角度調整できるように決められている。そのため、鞘管47と懸濁液供給管49との間には隙間が存在するが、この隙間はゴム製のOリング等

の適宜シール部材によってシールされている。

懸濁液供給管 4 9 の懸濁液吐出口 5 0 の位置を調整するために、懸濁液供給管 4 9 の上部は角度調整装置 5 1 に連結されている。この角度調整装置 5 1 は、容器 4 0 または容器 4 0 を固定している基台（図示せず）に固定されている。角度調整装置 5 1 に採用する傾斜調整機構としては種々の技術が利用可能であるが、例えば図 3 に示すように、懸濁液供給管 4 9 を囲うように基台に設けた正方形枠 5 2 に容器中心軸を挟んで対向する複数のねじ孔 5 3 を設けるとともにこれらのねじ孔 5 3 にねじ 5 4 を取り付け、これらのねじ 5 4 を操作することによって懸濁液供給管 4 9 の角度を調整できる機構がある。このねじ式角度調整機構は、鞘管 4 7 と懸濁液供給管 4 9 との隙間に配置されるシール部材とともに、懸濁液供給管 4 9 の上下方向の位置決めとして機能する。

容器 4 0 の下端部に連結された流路ブロック 2 は、光を透過できる材料、例えば水晶、ガラス、溶融シリカまたは透明プラスチックからなる群から選択された材料で作られており、容器中心軸と同軸上に細い流路 3 が形成されている。図 4 に示すように、流路 3 は長方形の断面を有し、長手方向の壁面 5 5, 5 6 を X 方向に向け、短手方向の壁面 5 7, 5 8 を Y 方向に向け、一方の短手方向壁面 5 7 から第 1 と第 2 のレーザ光 8, 1 2 が入射され、前方散乱光 5 9 が対向する他方の短手方向壁面 5 8 から出射するとともに一方の長手方向壁面 5 6 から蛍光・側方散乱光 6 0 が出射するように配置される。

流路ブロック 2 はまた、図 4 と図 5 に拡大して示すように、蛍光・側方散乱光を検出する第 1 と第 2 の光ファイバ 2 6, 2 7 を保持している。これらの光ファイバ 2 6, 2 7 は、通常的光ファイバと同様に、光を導光するコアと、コアの周囲を被覆するクラッドからなる。これら第 1 と第 2 の光ファイバ 2 6, 2 7 の一端面 6 1, 6 2 は、それらの中心軸と直交する方向に加工されており、流路 3 の長手方向壁面 5 6 と所定の距離 δg （図 4 参照）をあけて、容器中心軸と直交する水平方向（Y 方向）に垂直に向けて配置されている。また、図 5 に示すように、第 1 と第 2 の光ファイバ 2 6, 2 7 は容器中心軸方向に一行に整列して配置されており、上述のように第 1 と第 2 の光ファイバ 2 7 の中心高さが第 1 と第 2 のレーザ光 1 2 の入射位置（高さ）1 5 1, 1 5 2 に一致させてある。

図4に示すように、流路3の大きさ（すなわち、寸法 d_x 、 d_y ）、第1と第2の光ファイバ26、27と流路3との距離（ d_g ）は、光ファイバ26、27のコア径（ d_f ）及び開口率（NA）を考慮したうえで、流路3中で細胞の通過する可能性がある楕円形の領域63の外縁から出た光が光ファイバ26、27のコアに入射し得ること、また流路3の角部64～67に当たった第1と第2のレーザー光8、12の散乱光がコアに入射しない条件に決められる。これら2つの条件が満足されることで、細胞から出た蛍光・側方散乱光が確実に光ファイバ26、27に入射されるとともに、角部の散乱光に起因するノイズが検出結果から除去される。例えば、これら2つの条件は、X、Y方向に関する領域63の寸法 δ_x 、 δ_y をそれぞれ流路寸法 d_x 、 d_y の約 $1/4 \sim 1/10$ の範囲に設定することにより満足される。具体例として、流路3の大きさは $d_x = 200 \mu\text{m}$ 、 $d_y = 100 \mu\text{m}$ に設定される。

流路ブロック2の製造及びこの流路ブロック2に光ファイバを固定する方法について説明する。図5に示すように、流路ブロック2は、容器下部の小径筒部42に連結された上部ブロック70と、この上部ブロック70の下部に連結された下部ブロック71と、下部ブロック71の下端に連結されたオリフィスプレート72から構成されている。これら3つの部材は、接着剤で接着してもよいし、熱を加えて熱融着してもよい。上部ブロック70には液体の流れる流路を小径筒部42の内空断面から流路3の断面まで狭くするためにテーパ流路73が形成されており、下部ブロック71に流路3が形成されている。また、オリフィスプレート72には、容器中心軸と同軸的に、検出流路3よりも狭い流路（オリフィス）74が形成されている。

下部ブロック71は複数の部材を組み合わせて構成する。例えば、図6に示すように、まずプレート75を用意する。次に、プレート75の一方の平坦面76上に、検出流路3の長辺寸法 d_x に相当する間隔をあけて、同一の厚み（ d_y ）を有する2つのスペースプレート77を配置し固定する。続いて、2つのスペースプレート77の上に、所定の厚み（ d_g ）を有するカバープレート（仕切り壁）78を配置し固定する。最後に、カバープレート78の上にホルダブロック79を配置して固定する。

ホルダブロック 79 には、カバープレート 78 に対向する面とこれに対向する反対側の面とを貫通する長方形の凹部 80 が形成されており、この凹部 80 にファイバホルダ 81 が挿入されて固定されている。ファイバホルダ 81 は、図 7 A と図 7 B に示すように、複数のファイバ 82 を並列に保持するための溝（ファイバ収容室）83 が形成されたブラケット状の第 1 のブロック 84 と、溝 83 を覆うプレート状の第 2 のブロック 85 からなる。第 1 と第 2 のブロック 84, 85 の大きさは、これらのブロック 84, 85 を組み合わせたときの外形が丁度凹部 80 と一致するようにしてある。また、溝 83 の大きさは、出来るだけ隙間の無い状態で複数の光ファイバ（少なくとも、第 1 と第 2 の光ファイバ 26, 27 を含む。）を並列に収容できる大きさとしてある。そして、溝 83 に光ファイバ 82 を収容したファイバホルダ 81 はホルダブロック 79 の凹部 80 に挿入されて固定される。このとき、光ファイバの端面はカバープレート 78 にほぼ接触させる。また、必要であれば、光ファイバ 82 は接着剤を用いてファイバホルダ 81 に固定する。

高感度をもって蛍光を測定するために、光ファイバ 26, 27 の端面とカバープレート 78 との間は、空気の無い状態に保つことが好ましい。そのため、両者の間には、透明の接着剤、オイル、ゲルなどの充填材 86（図 4 参照）を充填することが好ましい。また、カバープレート 78 を光ファイバ 26, 27（特に、コア）とほぼ同一の屈折率を有する材料で形成するとともに、それらの間に充填する透明の接着剤、オイル、ゲルの屈折率はカバープレート 78 と光ファイバ 26, 27（特に、コア）の屈折率とほぼ同一、又は光ファイバ 26, 27 とカバープレート 78 のそれぞれの屈折率のほぼ中間の屈折率であることが好ましい。この場合、蛍光と散乱光を効率良く光ファイバ 26, 27 に集光できる。

上述の実施例では、複数の光ファイバ 82 を長方形の溝 83 に収容して固定したが、図 8 A と図 8 B に示すように、一本の光ファイバとその周囲に配置された 6 本の光ファイバとからなるファイババンドル 87 を対応する大きさの円筒ファイバホルダ 88 に挿入して固定し、これら 7 本の光ファイバのうちの 2 本の光ファイバを第 1 と第 2 の光ファイバ 26, 27 として使用してもよい。ただし、本実施例の場合、円筒ファイバホルダ 88 がホルダブロック 79 に対して回転しな

いようにするために、円筒ファイバホルダ 8 8 の外周面に突起 8 9（または窪み）を形成するとともにホルダブロック 7 9 には対応する窪み（または突起）〔図示せず〕を形成して両者を係合させることが好ましい。

図 2 に戻り、容器 4 0 の小径筒部 4 2 には、流路ブロック 2 の下端オリフィス 7 4 から吐出される液体をそれぞれが細胞を含む液滴に分離するために、小径筒部 4 2 の外周から容器中心に向かって液体に振動を与える振動装置 9 0 が固定されている。この振動装置 9 0 は、小径筒部 4 2 の周囲に対称に複数配置するのが好ましい。また、振動装置 9 0 には、ピエゾ素子（P Z T）を用いるのが好ましい。

図 5 に示すように、フローサイトメータ 1 はまた、流路ブロック 2 の下方に、特定の粒子集団を採取するソーティング装置 9 1 を備えている。このソーティング装置 9 1 は、電源回路 9 2 と、オリフィス 7 4 から噴射される液体に接触する電極 9 3 と、オリフィス 7 4 の下方に該オリフィス 7 4 から噴射される液体の両側に配置された一对の導電性電極板（偏向板）9 4 a, 9 5 a を有する。なお、電極 9 3 の設置場所は限定的ではなく、流路ブロック 2 内の流路を流れる液体と接触することができればよい。また、電極板 9 4 a, 9 5 a は、これに水分が付着すると両者の間に形成される電界の分布に変化を生じる。そのため、これら電極板 9 4 a, 9 5 a は多孔性の金属板で構成され、それらの背面に吸引装置（真空装置）9 4 b, 9 5 b が設けられ、電極板 9 4 a, 9 5 a の表面に付着した液体がそれらの背後に設けた吸引装置 9 4 b, 9 5 b で吸引されるようにしてある。したがって、正極性に帯電した水分粒子は、電極板 9 4 a, 9 5 a に付着すると、この電極板 9 4 a, 9 5 a に形成されている微小の孔を通してその背面に移動する。その結果、電極板 9 4 a, 9 5 a の間に形成される電界は安定した状態を保つ。

このような構成によれば、図 2 に示すように、シース液供給部 4 5 から供給されたシース液は容器 4 0 の内部を下方に向けて移動する。単位時間当たりのシース液の供給量は、容器 4 0 の内部をシース液が容器中心軸を中心として層流状態で移動するように決定する。一方、懸濁液供給部 4 8 から供給された懸濁液は、懸濁液供給管 4 9 を介して、層流状態で流れるシース液の中心に供給される。こ

れにより、シース液が懸濁液の周囲を囲む円筒状の層流、すなわち粒子を容器 40 の中心軸に沿って一つ一つ正確に流すシースフローが形成される。次に、懸濁液とシース液は、容器 40 のテーパ部 43 で加速された後、小径筒部 42 に送られ、流路ブロック 2 に入ってテーパ流路 3 で再び加速されて流路 3 に入る。

図 4 に示すように、流路 3 を通過する粒子は第 1 と第 2 のレーザ光 8, 12 が照射されることにより、前方散乱光 59 と蛍光・側方散乱光 60 を生じる。前方散乱光 59 は、第 1 と第 2 のレーザ光 12 の延長上にある壁面 58 から流路ブロック 2 の外部に出て、第 1 の検出装置 21 で検出される。他方、第 1 と第 2 のレーザ光 8, 12 による蛍光・側方散乱光 60 は第 1 と第 2 の光ファイバ 26, 27 にそれぞれ集光され、第 2 の検出装置 25 で検出される。このとき、検出流路 3 の角部 64 ~ 67 で散乱した光が第 1 と第 2 の光ファイバ 27 に集光されることがないので、蛍光・側方散乱光に含まれるノイズを最小限に抑えることができる。第 1 の検出装置 21 と第 2 の検出装置 25 で検出された粒子の生物学的性質は、電源回路 92 (図 5 参照) に送られる。

流路 3 を通過したシース液は、オリフィス 74 からジェット噴射される。噴射されたシース液は、振動装置 90 から容器 40 の小径筒部 42 に加えられた振動によって、それぞれに粒子を収容した液滴となる。特に、本実施の形態では、振動装置 90 が容器 40 の小径筒部 42 に設けてあるので、振動装置 90 で発生した振動が効率良く層流混合液に伝達され、図 5 に示すように良好に液滴 96 に分離される。

オリフィス 74 から噴射されるシース液に含まれる液滴は、電源回路 92 から電極 93 に印加される電圧によって正極性又は負極性に荷電される。電源回路 92 は、信号処理装置 24 で検出された該粒子の生物学的性質から作成された信号に基づいて制御され、特定の液滴のみ荷電される。荷電された液滴 96 は、電極板 94a, 95a の間を通過する際に偏向され、特定の粒子だけが採取される。また、電極板 94a, 95a に付着した水分は、背後に設けた吸引装置 94b, 95b によって、多孔板で形成されたこれら電極板 94a, 95a を透過して吸引装置 94b, 95b に吸引される。そのため、電極板 94a, 95a の間には一定の電界が維持される。

なお、容器 40 または流路ブロック 2 の内部で細胞が詰まった場合、基台から容器 40 と流路ブロック 2 を取り外し洗浄して詰まった細胞を除去する。また、洗浄後の容器 40 と流路ブロック 2 を再びもとの状態に組み立てる。このとき、流路ブロック 2 の検出流路中心に励起光の集光位置を一致させる必要があり、ビームエキスパンダ、集光レンズに付設された集光位置調整装置を操作し、第 1 と第 2 のレーザ光の集光位置を調整する。しかし、散乱光を検出する第 1 及び第 2 の検出装置については、その蛍光・側方散乱光を集光する手段として流路ブロックに固定された光ファイバを用いているので、同様の調整はまったく不要である。

また、上述の実施の形態では、振動装置 90 を容器 40 の小径筒部 42 に固定し、この小径筒部 42 を流れる層流混合液に振動を加えたが、図 9 に示すように、流路ブロック 2 の上端に振動装置 90 を設置し、上下方向（液滴の吐出方向）に向けて振動を加えてもよい。この場合、液滴のきれが良くなり、効率的に液滴が形成される。当然ながら、振動装置 90 の設置場所や加振方向に関する技術は、本発明のフローサイトメータに限らず、従来のフローサイトメータにも適用できる。

さらに、上述の実施の形態では、容器 40 の中心軸に沿って真っ直ぐの懸濁液供給管 49 を配置したが、図 10 に示すように、上部を斜めに曲げた別の懸濁液供給管 49 を利用し、下部直管部を容器中心軸と平行に配置した状態で、容器 40 に対する上部直管部の挿入量を調整することにより、懸濁液供給管 49 から吐出する懸濁液の位置を調整することができる。なお、懸濁液 49 の吐出口を調整する機構については、本発明のフローサイトメータに限らず、他のフローサイトメータにも適用できる。

さらにまた、図 11 に示すように、容器 40 の大径筒部 41 と小径筒部 42 の少なくともいずれか一方にシース液を排出するドレーン管 97 を接続するとともに、シース液供給管 46 とドレーン管 97 を弁機構 98 を介してシース液供給部 45 とシース液回収部 99 に接続し、弁機構 98 を操作することによって、シース液供給管 46 をシース液供給部 45 またはシース液回収部 99 のいずれか一方に選択的に流体接続し、ドレーン管 97 をシース液供給部 45 またはシース液回収部 99 のいずれか一方に選択的に流体接続するようにしてもよい。この場合、

弁機構 98 を操作することによって、容器 40 内に滞留している細胞・ごみ・空気を抜き取って回収したり、シース液の交換を行うことが自由にできる。また、このような細胞等を回収する配管についても、本発明のフローサイトメータに限らず、他のフローサイトメータにも適用できる技術である。

5 I I I . 信号処理系 :

図 11 は、信号処理装置 24 の回路を示す。図示するように、信号処理装置 24 は複数のアンプ 101 を備えており、第 1 の検出部 21 と第 2 の検出部 25 の光検出器から出力された信号（前方散乱光、側方散乱光、蛍光に対応する信号）がそれぞれ増幅される。増幅された信号はパラメータセレクト 102 に送信され、
10 予め決められた波長域のパルス波形の信号として取り出される。パラメータセレクト 102 で取り出された信号は、アナログ信号の状態では A/W/H 演算器 103 に送信され、その面積、幅、高さ、面積が計算される。次に、アナログ信号は A/D 変換器 104 でデジタル信号に変換された後、先入れ先だし (F I F O) メモリ 105 に送信されて記憶される。

15 上述のように、第 2 の検出部における 2 つの光ファイバ 26, 27 は、流路 3 の流れの方向に関して異なる位置に配置されている。したがって、一つの粒子から出た蛍光・散乱光を第 2 の光ファイバ 27 で検出する時刻は、同一の粒子から出た蛍光・散乱光を第 1 の光ファイバ 26 で検出する時刻よりも所定時間遅れる。その結果、一つの粒子について、第 1 の光ファイバ 26 に関係する信号が F I F O
20 メモリ 105 に入力される時間と、第 2 の光ファイバ 27 に関係する信号が F I F O メモリ 105 に入力される時間との間に上記所定時間の差を生じる。そのため、F I F O メモリ 105 はタイミング制御部 106 に接続されており、上記所定の時間遅れを考慮したタイミングをもってタイミング制御部 106 から送信される信号に基づき、一つの粒子に関連した信号が F I F O メモリ 105 から同
25 時に出力される。

F I F O メモリ 105 から出力されたデジタル信号はコンペンセーション回路 107 に送信され、そこで予め決められた比率をもとに各蛍光成分からその蛍光成分に含まれていると思われる別の蛍光成分が除去される。コンペンセーションが行われたデジタル信号は log 変換/増幅回路 108 に送られ、そこで log

変換または増幅される。変換または増幅されたデジタル信号は、ホストコンピュータ 109 とソーティング制御回路 110 に送られる。ホストコンピュータ 109 に送信された信号は、例えば粒子の生物学的性質の検出に利用される。また、ソーティング制御回路 110 に送信された信号は、ソーティング装置における電源回路の制御に利用される。

このように、信号処理装置 24 では、パラメータセクタ 102 から出力されたアナログ信号を A/W/H 演算器 103 でその面積、幅、高さ、面積を計算しているので、例えば、デジタル信号プロセッサの中でコンペンセーション回路と log 変換回路との間に A/W/H 演算器を設けた場合に比べて、分解性・精度の点で優れた結果が得られる。また、アンプから出力されたアナログ信号を log 変換する一方、デジタル信号プロセッサでは FIFO メモリから出力されたデジタル信号をコンペンセーション回路でコンペンセーションし更に A/W/H 演算器でその面積等を計算する場合には、アナログ信号を用いた log 変換の精度が悪く、またコンペンセーションされたデジタル信号を log 変換し更に再 log 変換しなければならないという問題があるのに対し、上述した信号処理装置 24 ではそのような問題がないという利点を有する。

以上に説明した本発明のフローサイトメータでは、蛍光・側方散乱光を検出するための集光手段として光ファイバを利用しているが、前方散乱光を集光するための手段として光ファイバを利用することもできる。この場合、前方散乱光を集光するための光ファイバも、図 6 を参照して説明した方法と同様の方法で、流路の近傍に固定することができる。また、照明部についても、集光レンズなどの光学機器を用いることなく、レーザ発生器から出力された光を光ファイバを介して流路まで導光してもよい。この場合、光ファイバから出力された光を集光するために、この光ファイバの出光端を凸レンズ状に曲面加工するのが好ましい。そして、このような構成を採用すれば、洗浄後の光軸調整が更に簡単になる、またはまったく不要になる。

また、上述のフローサイトメータでは、蛍光・側方散乱光を検出するための第 1 と第 2 の光ファイバを流路の片側に並列して配置したが、流路を挟むようにしてその左右両側にそれぞれ分けて配置することもできる。

以上の説明から明らかなように、本発明に係るフローサイトメータによれば、洗浄後の光軸調整が容易になる。また、高精度で生物学的粒子の生物学的性質が検出できる。

請 求 の 範 囲

1. 染色処理された生物学的粒子を含む液体に光を当て、該生物学的粒子からの情報光を検出して、該生物学的粒子の生物学的情報を得る装置（１）において、
光を透過する材料からなり、染色処理された生物学的試料を含む液体が流れる
5 流路（３）を形成する流路形成部材（２）と、

上記流路（３）を流れる粒子に光を当てる照明部（５）と、

上記粒子に当てられた光から得られる第１の情報光を検出する第１の検出部
（２１）と、

上記粒子に当てられた光から得られる第２の情報光を検出する第２の検出部
10 （２５）とを有し、

上記第１の検出部（２１）、第２の検出部（２５）の少なくともいずれか一方
は一つまたは複数の光ファイバ（２６，２７）を備えており、上記光ファイバ
（２６，２７）の一端面（６１，６２）は上記情報光を集光できるように流路
（２）の近傍に配置されていることを特徴とする装置。

2. 上記流路形成部材（２）に形成された流路は、対向する一对の平坦な第１
の壁面（５７，５８）と、上記第１の壁面（５７，５８）と直交する方向に伸び
た対向する一对の平坦な第２の壁面（５５，５６）によって形成された四角形の
断面を有し、

20 上記照明部（５）は上記一对の第１の壁面（５７，５８）の一方の壁面（５
７）に光を入射し、

上記第１の検出部（２１）は上記一对の第１の壁面（５７，５８）の他方の壁
面（５８）を透過した光を検出し、

25 上記第２の検出部（２５）は上記一对の第２の壁面（５５，５６）の一方の壁
面（５６）を透過した光を検出することを特徴とする請求項１に記載の装置。

3. 上記光ファイバ（２６，２７）の一端面（６１，６２）は上記一对の第２
の壁面（５５，５６）の一方の壁面（５６）にほぼ平行に配置されていることを
特徴とする請求項２に記載の装置。

4. 上記流路形成部材(2)は、上記光ファイバ(26, 27)の一端面(61, 62)とこの一端面(61, 62)が対向する壁面(56)との間に仕切り壁(78)を有し、上記仕切り壁(78)に上記光ファイバ(26, 27)の一端面(61, 62)が対向して配置されていることを特徴とする請求項2または3のいずれかに記載の装置。

5. 上記光ファイバ(26, 27)の一端面(61, 62)と上記仕切り壁(78)の間には透明の充填材(86)が充填されていることを特徴とする請求項4に記載の装置。

6. 上記光ファイバ(26, 27)の一端面(61, 62)と上記仕切り壁(78)の間には、上記光ファイバ(26, 27)と上記仕切り壁(78)のそれぞれの屈折率のほぼ中間の屈折率を有する透明の充填材(86)が充填されていることを特徴とする請求項4に記載の装置。

7. 上記四角形の断面を有する流路(3)は、上記一对の第1の壁面(57, 58)と一对の第2の壁面(55, 56)が交差する角部(64~67)から生じる拡散散乱光が上記光ファイバ(26, 27)に入らないように決められていることを特徴とする請求項2に記載の装置。

8. 染色処理された生物学的粒子を含む液体に光を当て、該生物学的粒子からの情報光を検出して、該生物学的粒子の生物学的情報を得る装置において、

光を透過する材料からなり、染色処理された生物学的試料を含む液体が流れる流路(3)を形成する流路形成部材(2)と、

上記流路(3)を流れる粒子に光を当てる照明部(5)と、

上記粒子に当てられた光から得られる第1の情報光を検出する第1の検出部(21)と、

上記粒子に当てられた光から得られる第2の情報光を検出する第2の検出部

(25)とを有し、

上記照明部(5)は上記流路(3)の中心軸方向に所定の間隔をあけた第1の位置(151)と第2の位置(152)にそれぞれ光を集光する第1の光学部

(6, 9, 10, 11)と第2の光学部(7, 13, 14, 15, 16)を有し、

5 上記第1の検出部(21)、第2の検出部(25)の少なくともいずれか一方は第1の光ファイバ(26)と第2の光ファイバ(27)を備えており、上記第1の光ファイバ(26)と第2の光ファイバ(27)の一端面(61, 62)は上記第1の位置(151)と第2の位置(152)で光が当てられた粒子からの上記情報光をそれぞれ集光できるように流路(3)の近傍に配置されていることを特徴とする装置。

9. 上記第1の位置(151)と第2の位置(152)は、第1の位置(151)で光を当てられた粒子からの散乱光が第2の光ファイバ(27)に検出されず且つ第2の位置(152)で光を当てられた粒子からの散乱光が第1の光ファイバ(26)に検出されないように決められていることを特徴とする請求項8に記載の装置。

10. 一本の光ファイバの周りに六本の光ファイバを隙間無く配置したファイババンドル(87)を有し、上記ファイババンドル(87)に含まれた複数の光ファイバの中から選択された2つの光ファイバが上記第1の光ファイバ(26)と第2の光ファイバ(27)として使用されていることを特徴とする請求項8または9のいずれか一に記載の装置。

11. 上記流路形成部材(2)は、少なくとも一つの平坦面(76)を有する第1の透光部材(75)と、一对の平行な平坦面を有し且つ一方の平坦面を上記第1の透光部材(75)と所定の間隔をあけて対向させた第2の透光部材(78)と、第1の透光部材(75)の平坦面とこれに対向する第2の透光部材(78)の平坦面との間に挟持されかつ所定の間隔をあけて対向し、上記第1の透光部材(75)と第2の透光部材(78)とともに四角形の流路(3)を形成する

一対の第3の透光部材(77)とを備えていることを特徴とする請求項1~10のいずれかーに記載の装置。

5 12. 上記流路形成部材(2)は、上記第2の透光部材(78)の他方の平坦面に対向する第4の部材(79)を備えており、上記第4の部材(79)は上記一以上の光ファイバ(26, 27)の一端を保持するファイバブロック(81)を保持していることを特徴とする請求項11に記載の装置。

10 13. 上記第1の検出部(21)と第2の検出部(25)の少なくともいずれか一方は、上記光ファイバ(26, 27)の他端にファイバコネクタ(28, 29)を備えており、このファイバコネクタ(28, 29)に上記光ファイバ(26, 27)を通じて送られる光をコリメートするレンズ(32, 33)が収容されていることを特徴とする請求項1~12のいずれかーに記載の装置。

15 14. 上記第1の検出部(21)と第2の検出部(26)の少なくともいずれか一方は、上記光ファイバ(26, 27)から出力された光を分光する分光器(30, 31)と、上記分光器(30, 31)で分光された光に含まれる情報を読み取る複数の光検出器(35, 37)を備えていることを特徴とする請求項1~13のいずれかーに記載の装置。

20 15. 上記複数の光検出器(35, 37)から出力された複数のアナログ信号の面積・幅・高さを演算するA/W/H回路(103)と、上記A/W/H回路(103)から出力されたアナログ信号をデジタル信号に変換するA/D変換器(104)と、上記A/D変換器(104)から出力されたデジタル信号に基づくデジタル情報を保存するとともに保存されている複数のデジタル情報を同時に
25 出力する先入れ先だしメモリ(105)と、上記メモリ(105)から出力されたデジタル情報を補正するコンベンション部(107)と、上記コンベンション部(107)から出力されたデジタル情報を対数演算するLog演算部(108)を有する信号処理部(24)を備えていることを特徴とする請求項1

4に記載の装置。

16. 上記流路(3)の上流側に配置されて層流形成室(44)を形成する筒状容器(40)と、

5 上記筒状容器(40)の上部から上記液体の主要部を構成するシース液を供給するシース液供給管(46)と、

上記筒状容器(40)の中心軸に沿って配置され、上記粒子を含む懸濁液を上記層流形成室(44)の中を流れているシース液に対して供給する懸濁液供給管(49)と、

10 上記懸濁液供給管(49)の懸濁液吐出口(50)の位置を調整する機構(51)を備えたことを特徴とする請求項1~15のいずれか一に記載の装置。

17. 上記層流形成室の下部に接続されたドレーン管(97)と、

上記シース液の供給部(45)と、

15 上記シース液の回収部(99)と、

上記シース液供給管(46)を上記供給部(45)または回収部(99)のいずれか一方に選択的に流体接続する手段(98)と、

上記ドレーン管(97)を上記供給部(45)または回収部(99)のいずれか一方に選択的に流体接続する手段(98)を備えた請求項1~16のいずれか
20 一に記載の装置。

18. 上記液体の流れに対してその直交方向から振動を与える手段(90)を備えていることを特徴とする請求項1~17のいずれか一に記載の装置。

25 19. 上記液体の流れに対してその流れの方向に振動(90)を与える手段を備えていることを特徴とする請求項1~17のいずれか一に記載の装置。

20. 上記流路から流出する液滴に電荷を付与する荷電手段(93)と、
荷電された液滴の落下経路の近傍に配置され一対の偏向板(94a, 95a)

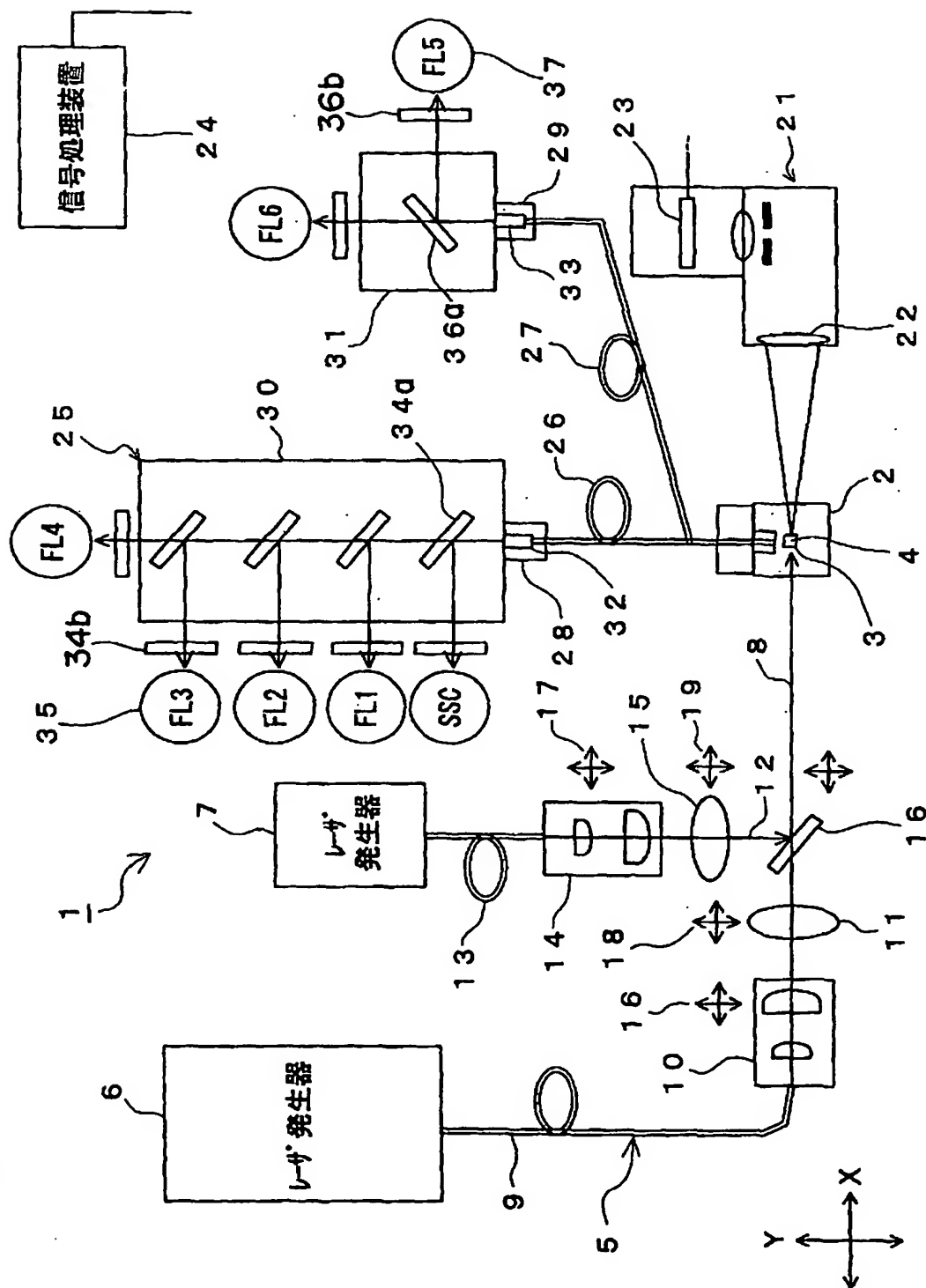
と、

上記一対の偏向板（94a, 95a）の間に電界を形成する電源回路（92）を有し、

上記偏向板（94a, 95a）の少なくとも一方を多孔板で形成し、

- 5 上記多孔板の背後には上記多孔板の表面に付着した液滴を背面に向けて吸引する吸引部（94b, 95b）を設けたことを特徴とする請求項1～19のいずれか一に記載の装置。

図 1



2/10

図 2

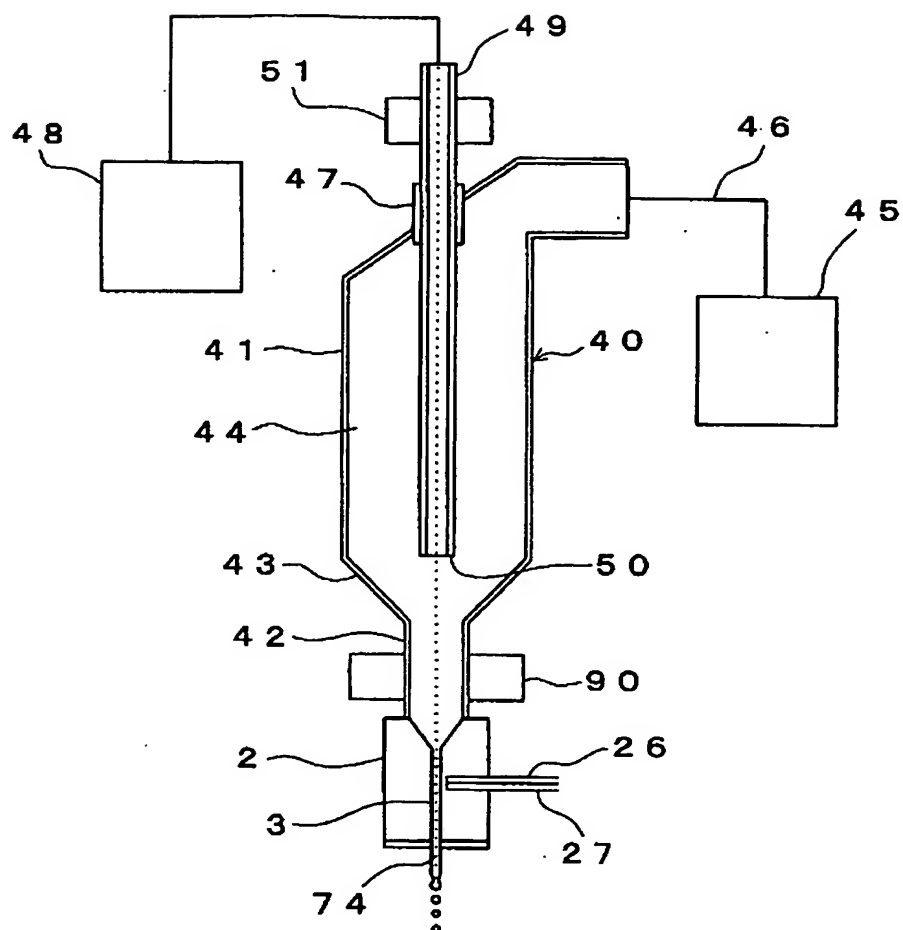
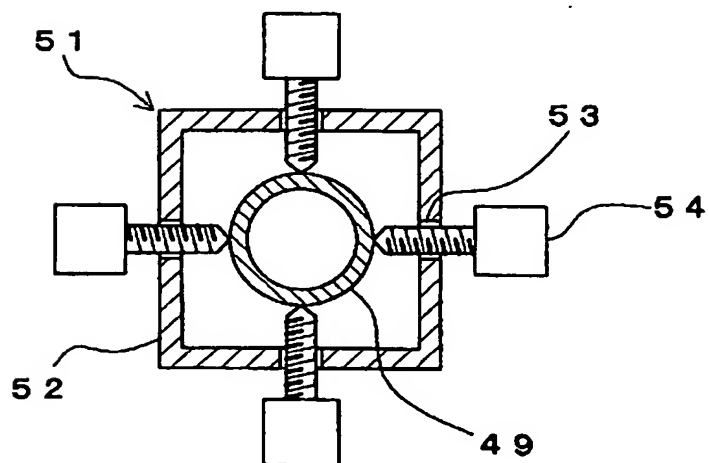
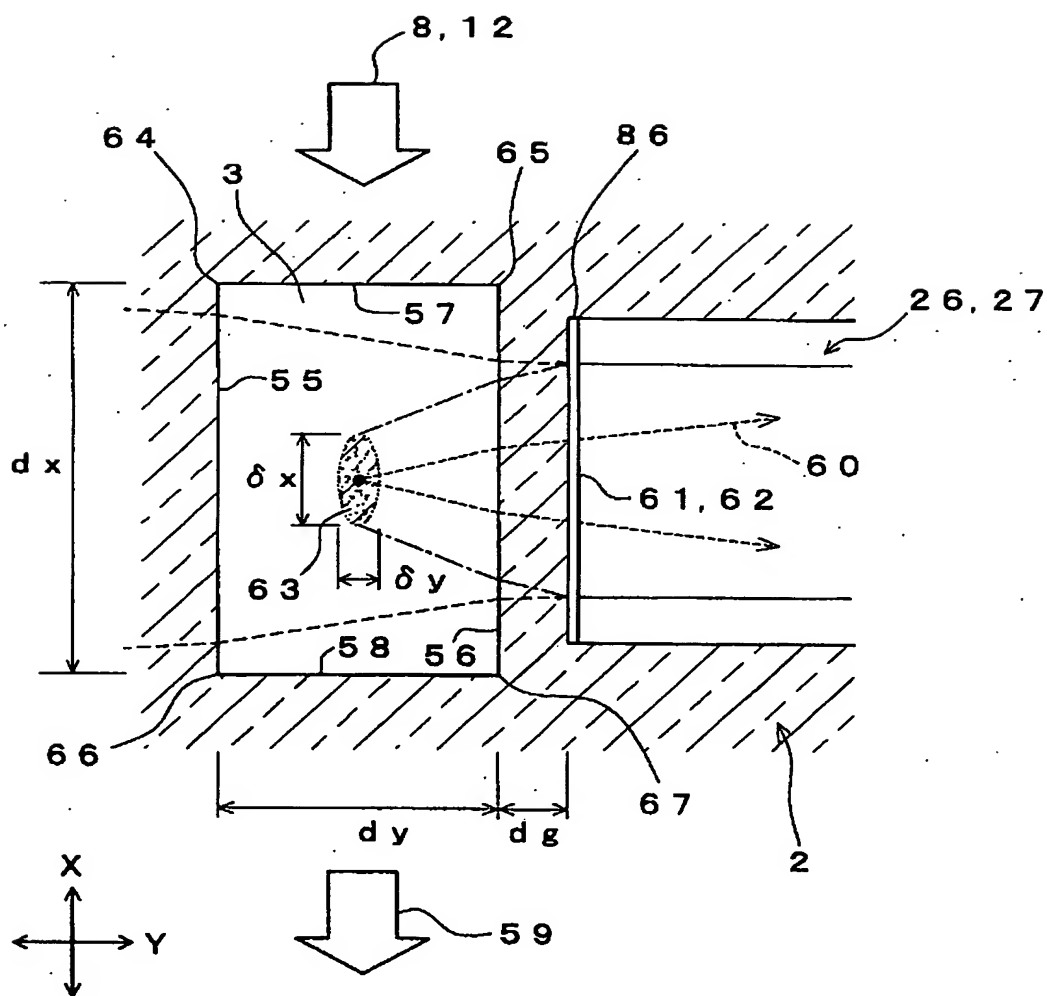


図 3



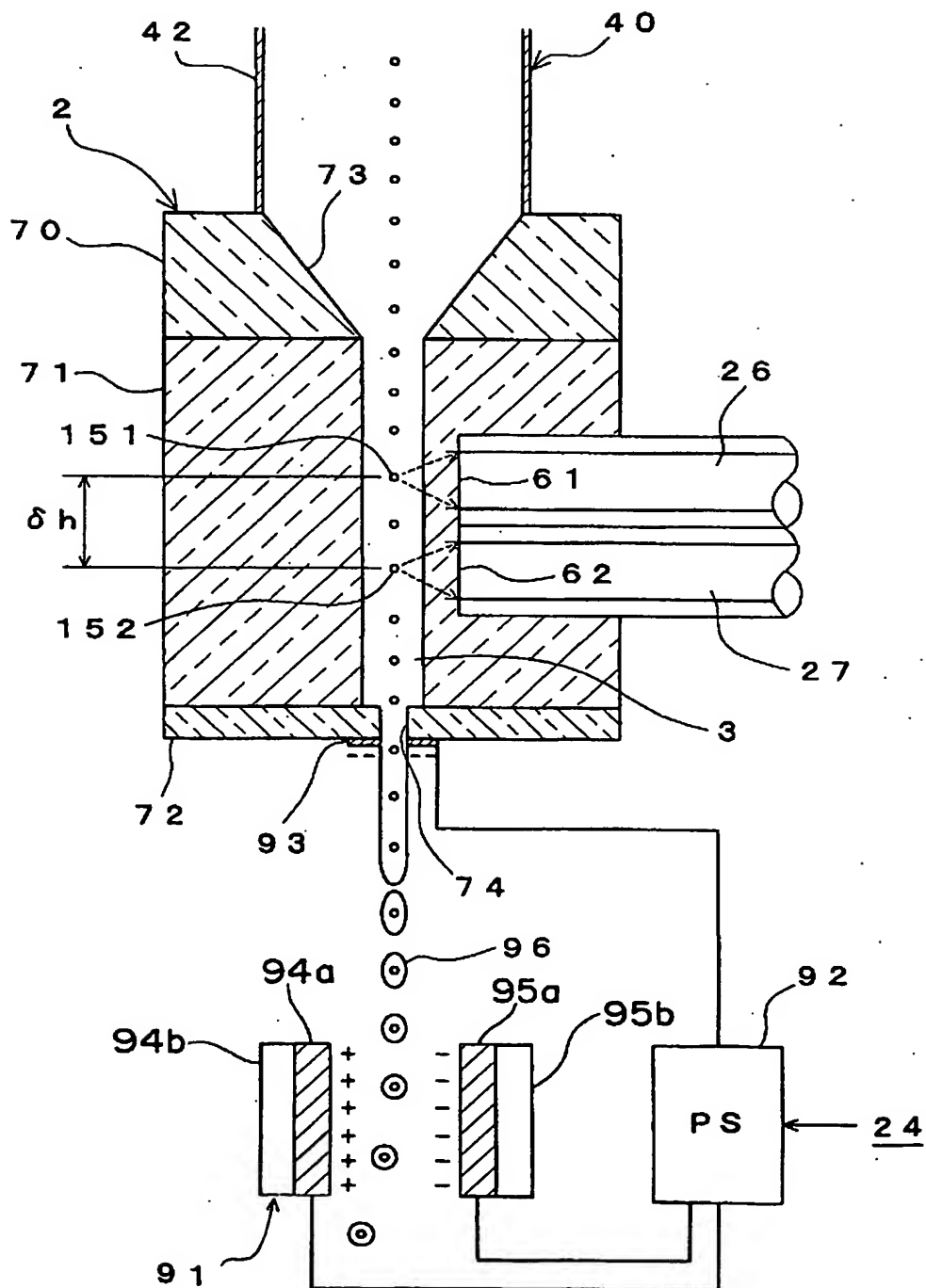
3/10

図 4



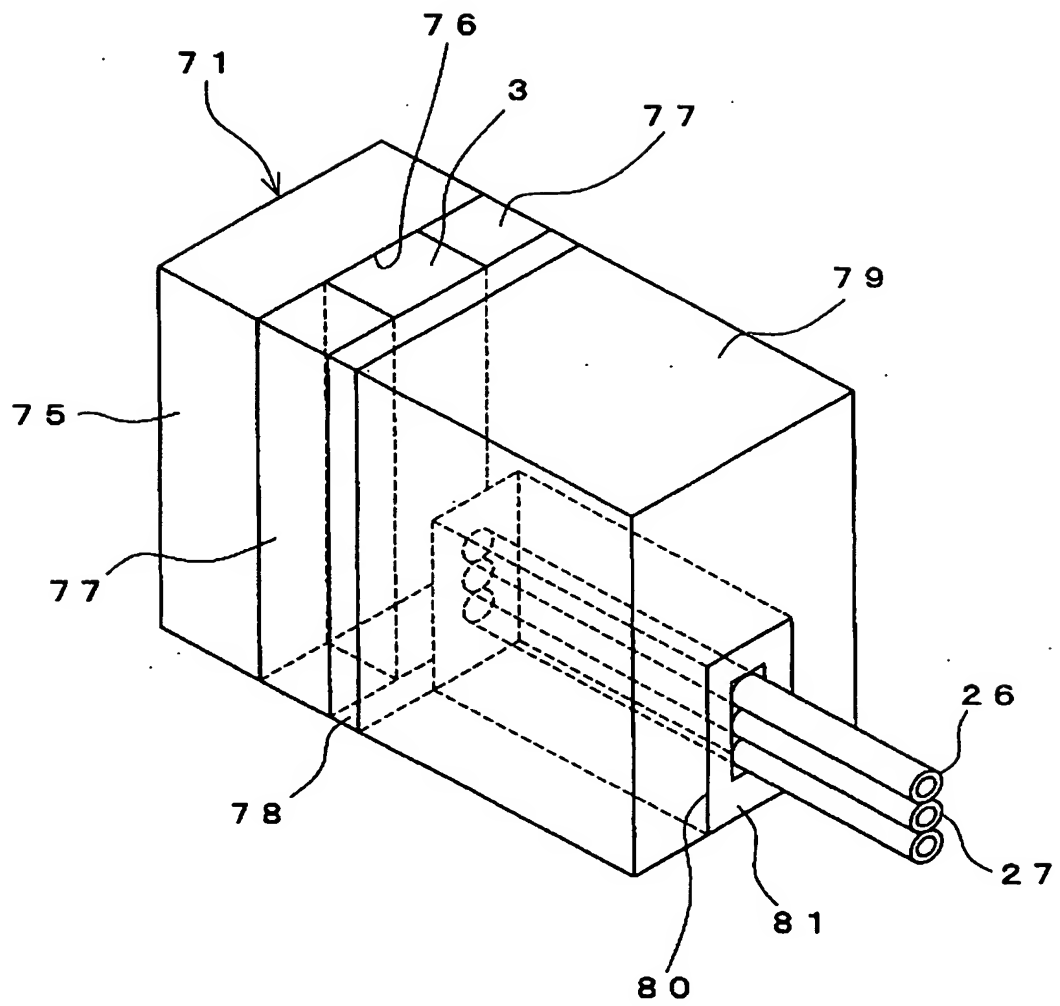
4/10

図 5



5/10

図 6



6/10

図 7 A

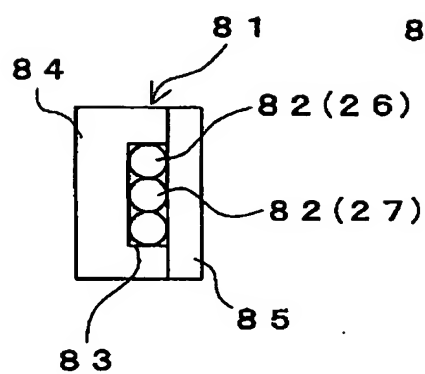


図 7 B

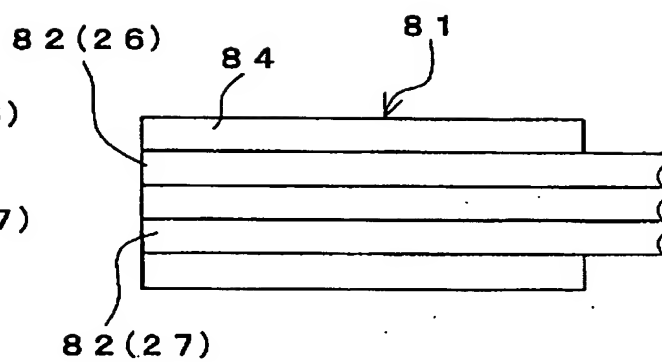


図 8 A

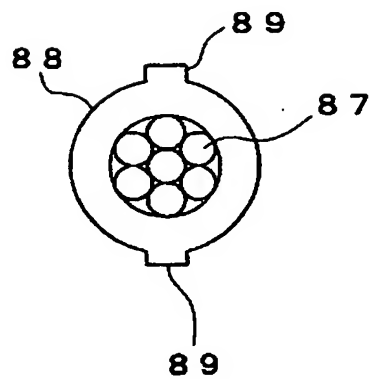
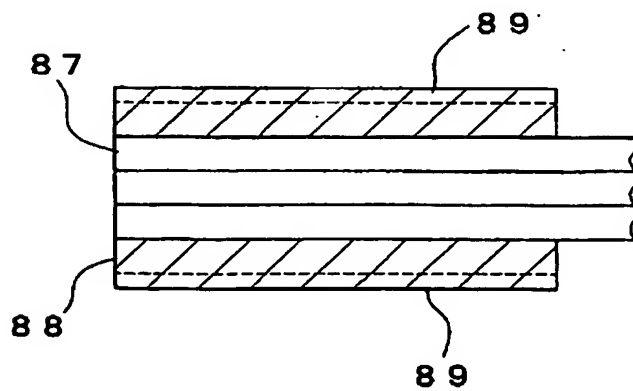
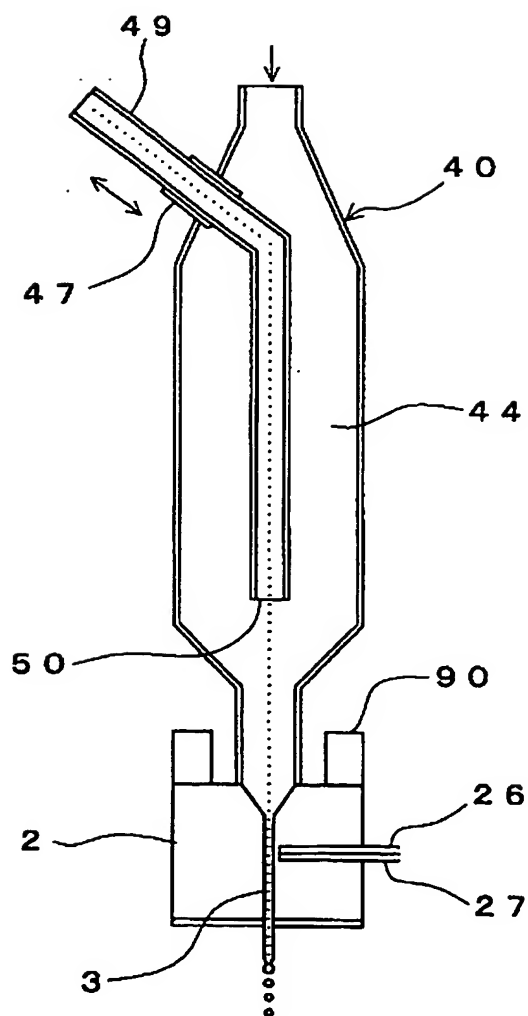


図 8 B



7/10

図 9



8/10

図 10

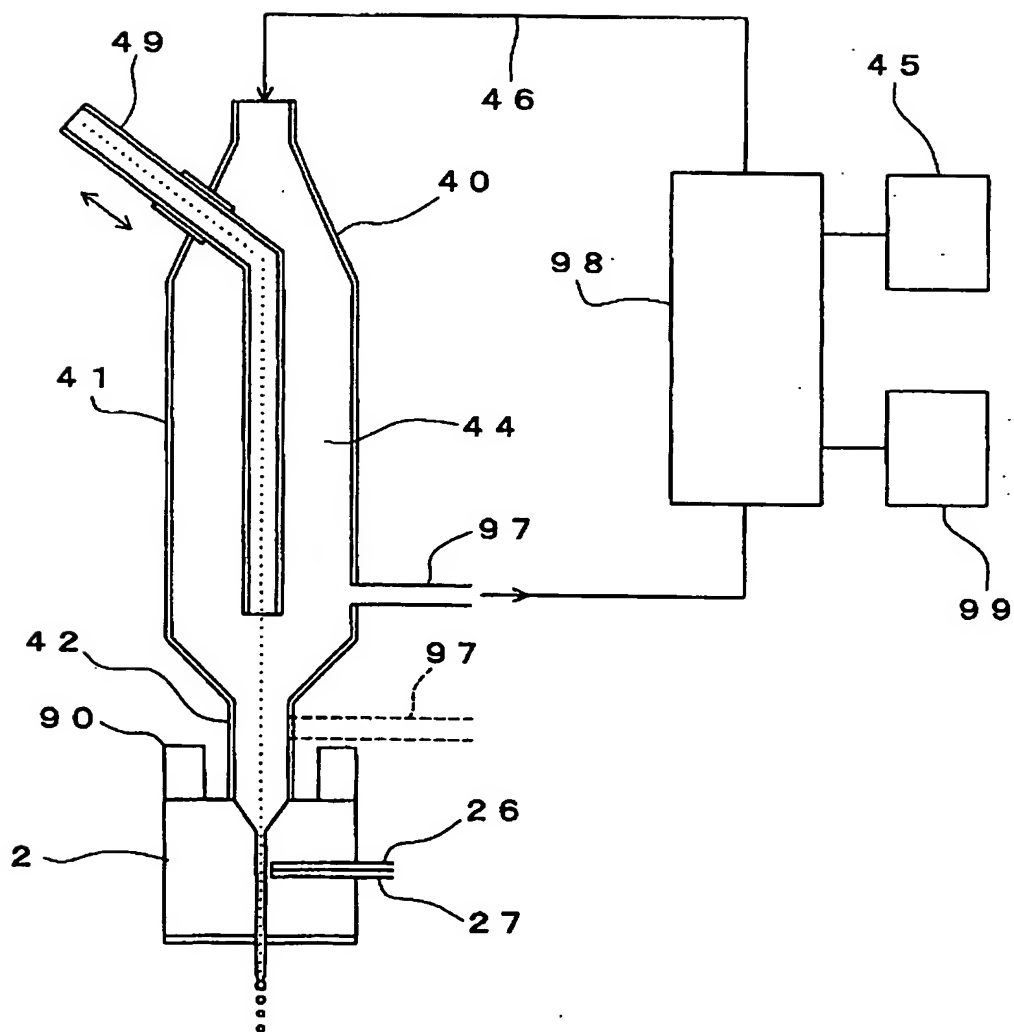


図 11

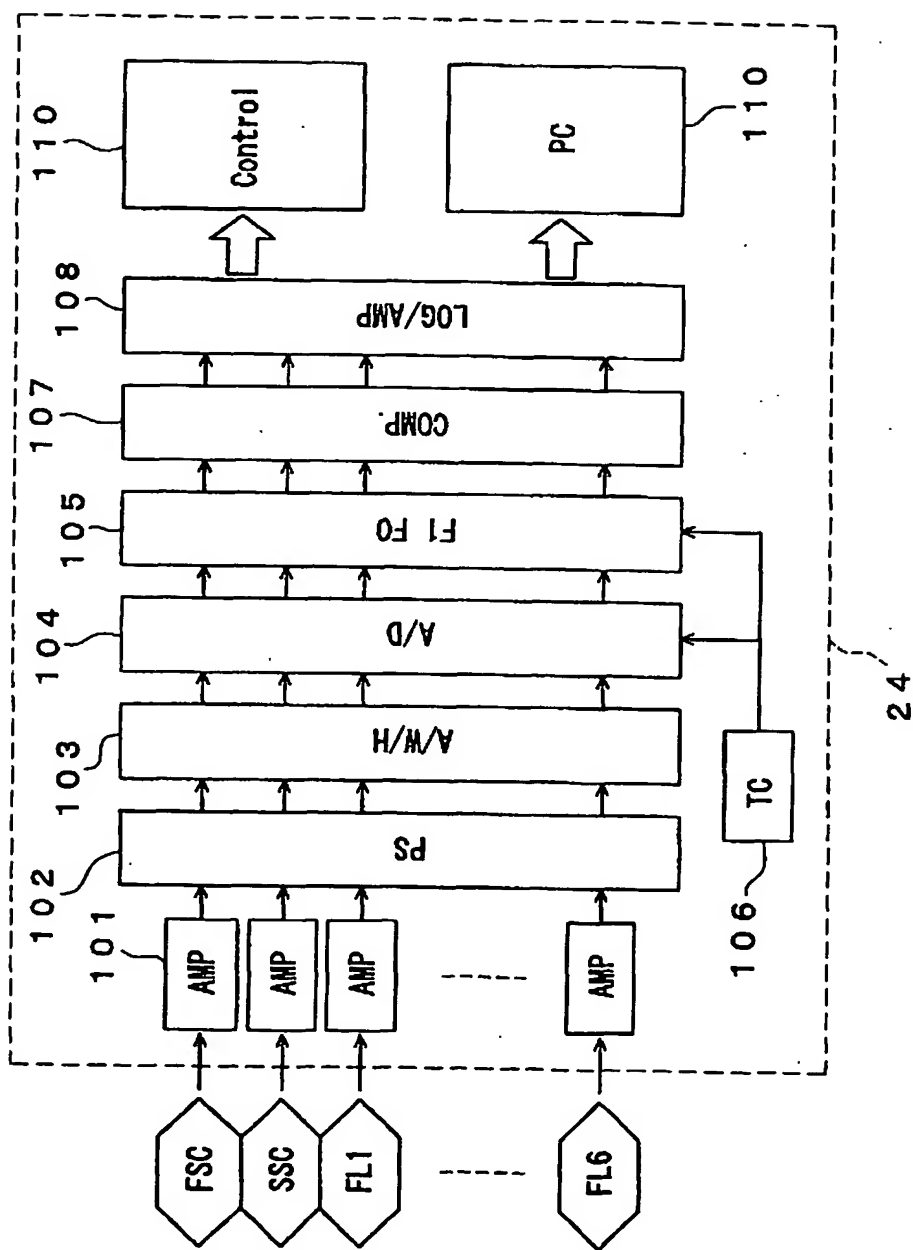
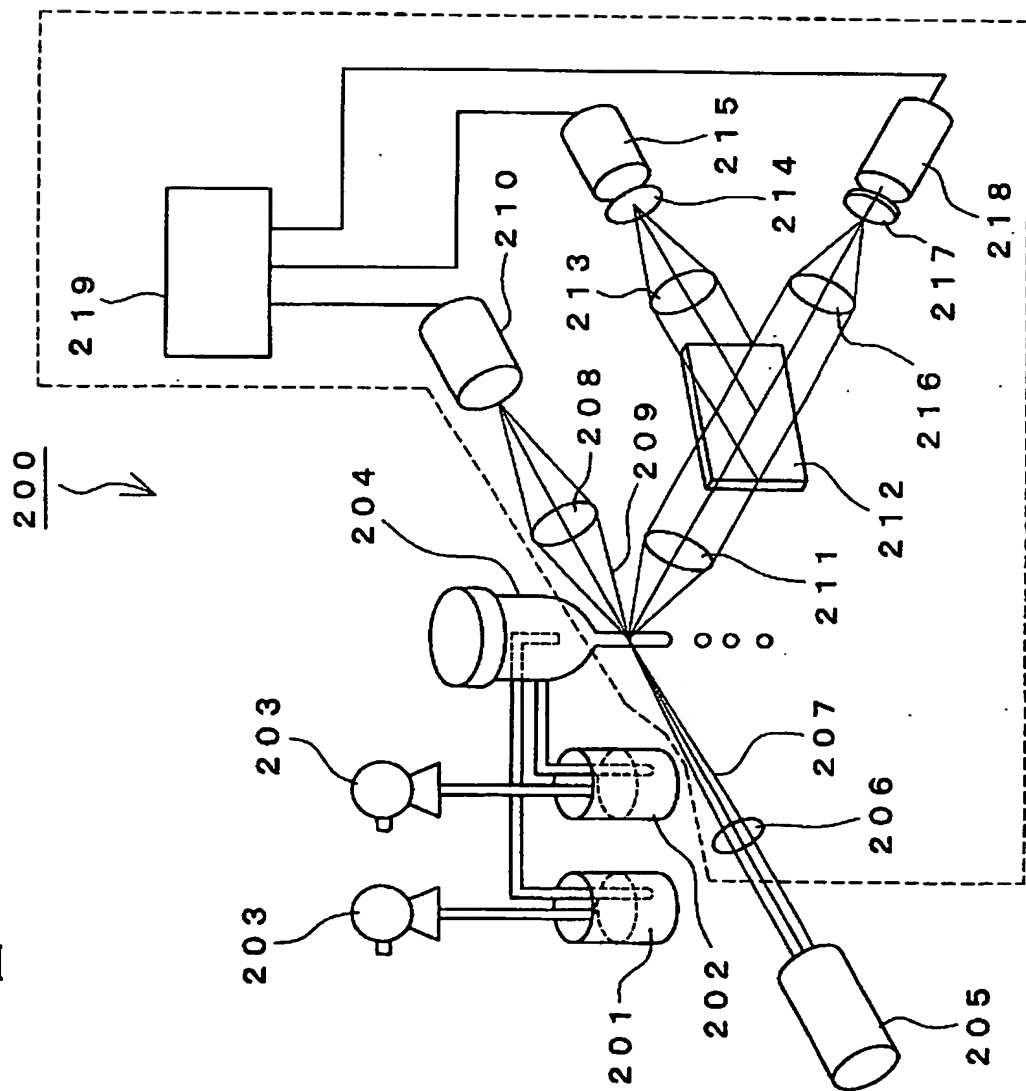


図 12



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/15461

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N15/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ G01N15/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2004
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2004 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2004

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	JP 62-44650 A (Canon Inc.), 26 February, 1987 (26.02.87), Full text; Figs. 1 to 2 (Family: none)	1-3, 7, 11, 12 8-10, 13-19 4-6, 20
Y	JP 7-92077 A (Canon Inc.), 07 April, 1995 (07.04.95), Full text; Fig. 1 (Family: none)	8-10
Y	JP 10-73528 A (Toa Medical Electronics Co., Ltd.), 17 March, 1998 (17.03.98), Page 3, left column, lines 41 to 48; Fig. 1 (Family: none)	13

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
08 January, 2004 (08.01.04)

Date of mailing of the international search report
27 January, 2004 (27.01.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national application No.

PCT/JP03/15461

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 7-83819 A (Canon Inc.), 31 March, 1995 (31.03.95), Page 4, right column, lines 37 to 41; Figs. 1, 2, 4 (Family: none)	14, 15
Y	JP 2002-31595 A (Sysmex Corp.), 31 January, 2002 (31.01.02), Full text; Figs. 1 to 13 (Family: none)	16
Y	JP 10-197440 A (Hitachi, Ltd.), 31 July, 1998 (31.07.98), Full text; Figs. 1 to 10 (Family: none)	17
Y A	JP 2002-521658 A (Coulter International Corp.), 16 July, 2002 (16.07.02), Full text; Figs. 1 to 20 & WO 00/5566 A & US 6079836 A & EP 1099105 A	18, 19 20
A	JP 10-132728 A (Nihon Kohden Corp.), 22 May, 1998 (22.05.98), Full text; Figs. 1 to 6 (Family: none)	1-20

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N15/14

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N15/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年
 日本国公開実用新案公報 1971-2004年
 日本国登録実用新案公報 1994-2004年
 日本国実用新案登録公報 1996-2004年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	J P 62-44650 A (キャノン株式会社) 1987. 02. 26, 全文, 第1-2図 (ファミリーなし)	1-3, 7, 11, 12
Y		8-10, 13-19
A		4-6, 20
Y	J P 7-92077 A (キャノン株式会社) 1995. 04. 07, 全文, 第1図 (ファミリーなし)	8-10

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

08. 01. 04

国際調査報告の発送日

27. 1. 2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
 郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

野村 伸雄



2 J 9311

電話番号 03-3581-1101 内線 3251

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 10-73528 A (東亜医用電子株式会社) 1998. 03. 17, 第3頁左欄第41行~第48行, 第1図 (ファミリーなし)	13
Y	JP 7-83819 A (キャノン株式会社) 1995. 03. 31, 第4頁右欄第37行~第41行, 第1、2、4図 (ファミリーなし)	14, 15
Y	JP 2002-31595 A (シスメックス株式会社) 2002. 01. 31, 全文, 第1-13図 (ファミリーなし)	16
Y	JP 10-197440 A (株式会社日立製作所) 1998. 07. 31, 全文, 第1-10図 (ファミリーなし)	17
Y	JP 2002-521658 A (コールター インターナショナル コーポレーション) 2002. 07. 16, 全文, 第1-2	18, 19
A	0図 & WO 00/5566 A & US 6079836 A & EP 1099105 A	20
A	JP 10-132728 A (日本光電工業株式会社) 1998. 05. 22, 全文, 第1-6図 (ファミリーなし)	1-20